[UCI]I804:24011-200000233978

2007년 2월

박사학위논문

노화흰쥐의 시상하부에서 *vasopressin*과 *vasoactive intestinal polypeptide* 면역반응 신경세포의 형태학적 변화

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 주 수

노화흰쥐의 시상하부에서 *vasopressin*과 *vasoactive intestinal polypeptide* 면역반응 신경세포의 형태학적 변화

Morphological changes in vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the aged rats

2007년 2 월 25 일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 주 수

노화흰쥐의 시상하부에서 *vasopressin*과 *vasoactive intestinal polypeptide* 면역반응 신경세포의 형태학적 변화

지도교수 정 윤 영

이 논문을 의학박사학위 신청 논문으로 제출함.

2006년 10월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 주 수

김주수의 박사학위 논문을 인준함

위원장 전남 대학교 교수 인

위 원 조선 대학교 교수 인

위 원 조선 대학교 교수 인

위 원 조선 대학교 교수 인

위 원 조선 대학교 교수 인

2006년 12월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

목 차

도 목 차

ABSTRACT

서 론 ———— 1

실험재료 및 방법 ———— 4

결 과 ———— 6

고 찰 ———— 9

결 론 ———— 12

참 고 문 헌 ———— 14

Explanation of Figures ———— 19

Figures ———— 22

도 목 차

Fig. 1. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus.---------- 22

Fig. 2. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in supraoptic nucleus of hypothalamus.---------- 22

Fig. 3. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in arcuate nucleus and median eminence of hypothalamus.---------- 23

Fig. 4. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in suprachiamatic nucleus of hypothalamus.---------- 24

Fig. 5. Photomicrographs of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in ventromedial hypothalamic nucleus, arcuate nucleus and median eminence of hypothalamus. ---------- 25

Figure 6. Graphic representation of the total number of vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons estimated from hypothalamus of the young and aged rat. ---------- 26

ABSTRACT

Morphological changes in vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the aged rats

Kim, Ju-Soo
Advisor: Prof. Chung, Yoon-Young, M.D.,Ph.D.
Department of Medicine
Graduate School of Chosun University

The role of neuropeptides in the central nervous system(CNS) has received increasing attention. Numerous peptide molecules are found in the mammalian CNS and many are thought to act as either neurotransmitters or neuromodulators. The neuropeptides found in high concentration in the hypothalamus include vasopressin(VP), vasoactive intestinal polypeptide (VIP), somatostatin(SOM), oxytocin(OXY). The main approches to assess the involvement of neuropeptides can be focused on functions affecting the aging of the brain. Morphological aging of the CNS has been characterized by degenerative changes of fiber connections and cell loss, although degeneration does not always occur to the same extent throughout various parts of the brain and, moreover, varies for different cell types. Despite of many studies in

neurons VP and VIP containing, there exist discrepancies in results about the changes of aged rat brain.

The aim of the present study is, therefore, to investigative possible changes in the number and morphology of VP and VIP-immunoreactive neurons with aging in each area of the hypothalmus of the aged rats.

As a result, the number of VP and VIP-immunoreactive neurons was decreased in hypothalamus nucleus of aged group. Especially, in VP-immunoreactive neurons of hypothalamus, the size of neuronal cell body and nuclei in aged group is larger than in young group and the fiber density of immunoreactivity neurons of median eminance(ME) in aged group is stronger than in young group. But, the total number of VP-immunoreactive neurons in the suprachiasmatic nucleus(SCN) of the aged group is larger than in the young group. Moreover, the VIP-immunoreactive neurons in Arc of aged group is significantly smaller than in the young group and no change in the size of neuronal cell body and nuclei in aged group.

These studies indicate the involvement of VP and VIP-immunoreactive neurons in aging process of hypothalamus, and aging process may affect the synthesis of VP and VIP in the neurons of hypothalamic nuclei. Whereas, in VP expression, aging process induces an enlargement of the cell size of surviving neurons to compensate.

서 론

하루주기리듬은 모든 유기체의 실질적인 행동과 생리적 과정을 통괄한다.. 빛, 온도, 그리고 다른 상태에서 매일매일 변화에 대하여 끈임 없이 일어나는 여러 현상은 하루주기리듬은 매우 중요하다. 건강하고 변함없는 항상성 유지와 잘 짜여진 하루주기리듬은 건강한 삶을 유지하고 최적의 인식능력과 장수능력을 부여는 것으로 알려지고 있다(Chohen 등, 1991; Hurd 등, 1998; Ouyang 등, 1998; Winocur 등, 1998). 노화는 하루주기시간계통(circadian timing system)기능을 조절하는데 많은 변화를 가져오며 하루주기리듬과 환경적 명암주기의 변화된 양상, 시간에 따른 하루주기조정자(circadian pacemaker)의 감수성 적응능력의 감소, 리듬감의 상실과 활발한 사회생활을 적응하는데 어려운 현상이 나타난다고 알려지고 있다(Turck 등, 1995; Li 등, 1995; Scarbrough 등, 1997). 그러나 하루주기시간계통(circadian timing system)에서 노화현상이 일어나는 신경계통의 기능에 대해서는 아직 그 원인이 정확하게 밝혀지지 않은 실정이다.

중추신경계에서 노화의 현상은 신경섬유의 연결이 원활하지 못하여 퇴행성 변화가 일어나며 많은 신경세포손실로 인하여 기억력이 상실되는 것으로 특징지을 수 있다. 따라서 연구자들은 노화에 따른 뇌의 영향을 연구하기 위한 수단으로서 노화 쥐의 뇌의 신경세포에서 분비되는 신경전달물질과 신경호르몬 및 신경펩타이드를 포함한 신경세포가 노화에 따라 어떠한 변화양상을 가지는지 연구하고 있다(Sanders등, 1982)..

하루주기시간계통(circadian timing system)을 조절하는 뇌의 중추 부위는 사이뇌의 앞쪽 끝부분에 위치하고 많은 핵들로 구성되어 있는 시상하부이며, 시상하부의 신경세포들은 자율신경계 및 내분비계통과 밀접한 관련이 있어

호르몬생성을 조절할 뿐만 아니라 체온, 식욕, 하루주기행동(circadian behavior), 수면, 성에 관련된 다양한 기능을 조절하는 아주 중요한 구조이다. 시상하부의 신경세포들은 신경전달물질로 작용하는 여러 가지 신경펩타이들을 함유함으로써 이러한 기능들을 수행하는 것으로 알려지고 있다. 특히 내분비계통과 관련된 기능은 시상하부의 신경내분비세포에서 분비되는 신경펩타이드인 신경조절물질이나 신경전달물질을 연접틈새가 아닌 순환기계통 안으로 직접 분비함으로써 자율신경계통과 관련된 기능을 조절한다(Sawcenko 등, 1984). 시상하부에 높은 농도로 분포되어 있는 신경펩타이드는 vasopressin(VP), vasoactive intestinal polypeptide(VIP), somatostatin(SOM) 그리고 oxytocin(OXY), 등의 많은 종류가 있다(Morin 등, 1994; Leak 등, 1999). 본 연구에서는 하루주기의 조절자로도 알려져 있으며, 시상하부의 주요 구성성분으로 알려진 VP와 VIP를 연구하였다.

VP은 시상하부에서 분비되는 펩티드의 일종으로서 신경계통 및 내분비계통과 관련된 두 가지 기능을 수행하게 된다(Hatton 등, 1990). VP는 주로 작은 혈관벽의 평활근을 수축시킴으로써 혈압을 상승시키고 신장의 먼쪽곱슬세관(distal convoluted tubules)의 수분 재흡수를 촉진시킴으로서 항이뇨 호르몬 작용을 하며, 신경전달물질로서의 VP는 습득, 기억, 감정, 행동 등의 신경성 기능과 다양한 자율신경과 연관된 기능을 조절한다(Kovacs 등, 1994; Landgraf 등, 1995; Young 등, 1998, Antoni 등, 1993; Aguilera 등, 1994)). VIP는 28개의 아미노산으로 구성되어 있는 주요 조절 펩타이드이며 포유동물의 위장관, 내분비선, 중추신경계와 말초신경계 등에 광범위하게 분포되어있다. VIP는 간과 대뇌겉질에서 당분해를 유도하며, 기관지 확장, 혈관확장, 분비조절, 수면유도 및 평활근 이완, 그리고 위장관 분비과정에서 몇가지 감별효과를 가진다(Said 등, 1988)

본 연구는 노화에 의해 다양한 기본생활주기가 파괴되고 하루주기행동의 주간

리듬(diurnal rhythm)이 변화되는 것은 시상하부에서 분비되는 펩티드의 변화와 밀접한 관련이 있을 것으로 생각된다. 따라서 연구의 목적은 면역조직화학염색법을 이용하여 노화흰쥐 시상하부에서 VP와 VIP-면역반응 신경세포의 분포위치와 세포의 형태 변화 등을 비교 조사하여 포유동물 뇌의 노화현상에 대한 VP와 VIP의 기능을 이해하는데 기초자료를 제공하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

총 12마리의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 사용하였으며, 대조군은 연령이 3개월인 4마리의 젊은흰쥐(250～280gm)를 사용하였고 노화흰쥐(320～350gm)은 연령이 18개월이 된 8마리의 노화된 쥐를 사용하였다.

2. 조직처리

각 군의 흰쥐들은 pentobarbital sodium(60㎎/㎏)을 복막안에 주사하거나 에테르로 마취시켰다. 그 후 가슴을 열고 왼심실에 관류용 도관을 삽입한 후, heparin(250unit/㎖)을 함유한 생리식염수로 관류세척하고 0.1 M phosphate buffer(PB, pH 7.4)에 녹인 4 % paraformaldehyde 용액이나 Zamboni 고정액으로 관류 고정한 다음 뇌를 적출하여 동일한 고정액에 담가 4 ℃에서 12시간동안 후고정을 하였다. Free-floating 방법으로 면역조직화학염색을 시행하기 위해 고정된 뇌 조직은 후고정한 다음에 30 % sucrose 에 넣고 24시간 이상 침적시킨 후 꺼내어 동결절편기를 이용해 35 ㎛ 두께의 연속관상 동결절편을 제작하여 저장용액에 담아 4 ℃에 보관하였다.

3. 면역조직화학염색

저장액에 보관한 조직절편을 매 5장마다 1장씩을 선택하여 0.1 M PB로 옮겨서 수차례 수세한 후 과산화수소(H_2O_2)를 처리하여 내인성 과산화효소의 활성을 억제하였으며 다시 0.1 M PB로 세척한 후 면역조직화학염색을 실시하였다.

면역염색의 첫 단계로 비특이적 반응을 줄이기 위하여 3 % 염소혈청(normal goat serum)을 실온에서 1시간 반응시켰다. 1차 항체는 rabbit anti-vasopressin(1:500,Biogenesis)과 rabbit anti-vasoactive intestinal polypeptide(1:1000, Sigma)를 사용하여 4 ℃에서 24~48시간 동안 진동시키면서 반응시켰다. 그 후 0.1 M PB로 10분씩 3회 수세 과정을 거쳤으며, 2차 항체는 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector, 1:200)를 실온에서 1시간 반응시킨 후, 0.1 M PB로 10분씩 3회 수세하였다. 그리고 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC, Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시킨 후, 0.1 M PB로 10분간 다시 3회 수세하고 나서 3,3′-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB, Sigma)를 Tris-buffered saline (TBS)에 녹여 기질용액으로 사용하였는데 반응 직전에 H_2O_2를 0.003 %가 되도록 첨가하였으며, 실온에서 5-10 분간 반응시킨 후 현미경하에서 발색 정도를 확인하였다. 그 후 TBS로 2~3회 세척한 후 염색한 조직절편들을 젤라틴이 피막된 슬라이드에 부착하여 실온에서 12시간 이상 건조한 다음, 통상의 조직처리 과정을 거쳐 polymount (Polyscience)로 봉입하여 광학현미경으로 비교・관찰하였다.

4. 통계처리

통계처리는 비슷한 부위 5개의 조직절편(400μm^2)을 선택하여 시상하부에서 관찰된 VP 와 VIP-면역반응 신경세포의 수를 각각 측정하여 평균화하고 두 군의 비교는 T-test를 이용하였다.

결 과

1. Vasopressin-면역반응 신경세포

전체적으로 VP-면역반응 신경세포는 젊은 쥐의 시상하부보다는 노화흰쥐의 시상하부에서 더 활성화된 양상이 관찰되었다. 특히, 시상하부의 뇌실곁핵(paraventricular nucleus)과 시각로위핵(supraoptic nucleus, SON)보다는 정중융기(median eminace, ME)와 시각교차위핵(suprachiasmatic nucleus, SCN)에서 두드러지게 나타났다.

우선, 젊은 쥐의 시상하부에서 VP-면역반응 신경세포는 뇌실곁핵과 시각로위핵에서 주로 관찰할 수 있었다. 그리고 뇌실곁핵과 시각로위핵을 제외한 시상하부의 나머지 부위에서는 매우 약한 반응을 보였다. 뇌실곁핵에 존재하는 VP-면역반응 신경세포와 시각로위핵에 존재하는 VP-면역반응 신경세포의 양상은 비슷하였다. 그리고 VP-면역반응 신경세포의 세포체의 크기는 두 핵 모두에서 대략 20～30㎛정도였으며 세포체 모양은 주로 원형이나 타원형이 가장 많았다(Fig. 1, 2-A, B).

노화흰쥐의 VP-면역반응 신경세포의 분포양상은 젊은 쥐와 마찬가지로 뇌실곁핵과 시각로위핵에서 관찰되었으며 VP-면역반응 신경세포의 세포체는 젊은 쥐보다 훨씬 강하게 염색되었으며(Fig. 1), 노화흰쥐의 VP-면역반응 신경세포는 젊은 쥐에 비해 그 세포체가 더 커지고 세포핵도 팽대되었다. 뚜렷하게 나타난 돌기를 가진 세포 또한 젊은 쥐에 비해 더 많이 나타났다. 그러나 PVN에서 관찰된 VP-면역반응 신경세포의 수를 세어서 젊은 쥐(34.1±8.4)와 노화흰쥐(27.7±6.8)를 비교한 결과 노화흰쥐의 VP-면역반응 신경세포의 수가 젊은흰쥐에 비해 약 12 % 정도 적게 나타났다. 그리고 이러한 양상은 SON에서도 아

주 비슷한 분포와 VP-면역반응 신경세포의 형태를 가지고 있음을 관찰하였다(Fig. 6). SON에서의 VP-면역반응 신경세포의 수를 비교한 결과는 노화흰쥐(27.2±8.3)에 비해 젊은 쥐(39.0±9.5)에서 많은 세포수가 관찰되었다(Fig. 6). 그리고 팽대된 VP-면역반응 신경세포의 세포체의 크기는 젊은 쥐에 비해 노화흰쥐에서 거의 2배정도가 팽대되어 있음이 관찰되고 그에 따라 세포체 내에 팽창된 핵도 관찰되었다(Fig 2-C, D).

그리고 젊은 쥐의 활꼴핵(arcuate nucleus, Arc)에서 노화흰쥐보다 더 많은 VP-면역반응 신경세포들이 관찰되었으나 염색강도는 약했다. 하지만 노화흰쥐에서는 VP-면역반응 신경세포를 관찰되지 않았다(Fig. 3-C, D). 반면에 정중융기와 시교차위핵에서 관찰된 VP-면역반응 신경세포들은 젊은 쥐와는 다르게 노화흰쥐에서 매우 강한 염색강도를 가지고 있었으며 특히 정중융기에서는 세포돌기들이 그물망을 형성하면서 가쪽으로 뻗어나갔다(Fig 3-E, F). 시교차위핵에서 관찰된 VP-면역반응 신경세포는 뇌실곁핵이나 시각위핵과는 매우 다른 양상을 가지고 있었으며, 시교차위핵의 등쪽안쪽핵부위에서만 관찰되었고, 세포체 크기가 약 8~12㎛ 정도로 세포질이 강하게 염색되어 핵은 관찰되지 않았다. 특히 VP-면역반응 신경세포의 수를 세어보면 젊은흰쥐보다 약 2배가량 높게 나타났다(Fig. 4).

2. Vasoactive intestinal polypeptide-면역반응 신경세포

VIP-면역반응 신경세포는 주로 시상하부의 정중융기, 활꼴핵, 배쪽안쪽시상하부핵(ventromedial hypothalamic nuleus, VMH)에 분포되어 있으며 염색강도 또한 높게 관찰되었고, 나머지 부위에서는 거의 관찰되지 않았다. 먼저, 정중융기에서 VIP-면역반응 신경세포체는 관찰되지 않았으나 주변조직이 매우 강하게 염색되었으며 이 부위는 젊은 쥐나 노화흰쥐에서도 거의 같은 반응을 나타냈다(Fig. 5-A~B). 그러나 활꼴핵에서는 젊은 쥐와 노화흰쥐에서

많은 차이가 났으며 특히 노화흰쥐에서의 VIP-면역반응 신경세포의 수는 다소 감소되었음을 확인하였고, VIP-면역반응 신경세포의 세포체 또한 젊은 쥐보다 염색강도가 약하게 나타났다. 또한 배쪽안쪽시상하부에서도 마찬가지로 VIP-면역반응 신경세포가 노화흰쥐보다는 젊은 쥐에서 더 많이 관찰되었다. 그러나 각각의 세포체의 염색강도는 젊은 쥐와 노화흰쥐가 거의 같음이 관찰되었다(Fig. 5-A, B).

고 찰

본 연구의 결과는 젊은 쥐와 노화흰쥐의 시상하부에서 VP-와 VIP- 면역반응 신경세포들의 분포와 세포양상을 관찰하였다. 먼저, VP-면역반응 신경세포의 수는 시각교차위핵을 제외한 관찰된 시상하부의 다른 핵군들에서 약간 감소되었다. 반면에, 남아있는 VP-면역반응 신경세포는 세포체 부피가 증가한 것으로 보아 대사활성이 활발해짐을 확인하였는데 이러한 신경세포의 비후현상은 위에 언급한 것처럼 단백질 합성을 수반하는 세포소기관의 팽대를 의미하며 펩티드의 증가된 양을 합성한다고 보고되고 있으며(Medeira 등, 1993; Ruela 등, 1994) 세포체 크기와 그들의 핵소체, 핵, 단백질 합성을 하는 세포소기관의 부피가 동시에 증가되기 때문이며, 이러한 현상은 정상적인 성장, 탈수, 삼투현상의 불균형에 따른 호르몬 수요량이 증가된 경우에 관찰되는 것과 일치한다(Medeira 등, 1993; Zhang 등, 2001).

Silva 등(2002)은 위와 같은 신체의 불균형의 원인이 될 수 있는 알코올을 지속적으로 처리를 하여 VP와 옥시토신 mRNA 수준이 증가됨을 보고하였다. 본 연구에서는 노화로 인해 자율신경계의 중추인 시상하부의 균형을 깨짐을 확인할 수가 있으며 VP와 같은 신경펩타이드는 이러한 신경세포나 신경세포의 활성이 손실되었더라도 활성화된 VP를 함유한 신경세포에 의해서 어느 정도의 균형을 유지하려 함을 유추할 수 있다.

또한 정중융기와 시교차위핵에서 관찰된 VP-면역반응 신경세포들은 젊은흰쥐와는 다르게 노화흰쥐에서 매우 강하게 반응을 한 것으로 보아 시교차위핵에서 관찰된 VP-면역반응 신경세포는 뇌실곁핵이나 시각위핵과는 매우 다른 양상을 가지고 있었다. 이렇게 뇌의 부위에 따라 VP-면역반응 신경세포들이 모두 다른 양상을 가지는데 이것은 뇌의 부위에 따라 노화과

정이 다르고 이 노화과정은 신경펩타이드의 선택적인 변화가 있기 때문이라고 사료된다.

이러한 신경펩티드계의 선택적인 변화는 알츠하이머병(Alzheimer's disease)과 같은 신경퇴행성 질병의 연구에서도 많은 보고가 된다. VIP의 경우 알츠하이머 환자의 관자엽에 20~30% 정도의 감소가 나타났고(Mozurek 등, 1986) 다른 많은 학자들은 알츠하이머 환자에서의 대뇌겉질의 차이점이 나타나지 않는다고 보고하였다. 그리고 Barbara 등(2002)는 노화된 쥐의 시각교차위핵에서 somatostatin이 증가하고 이것이 다른 신경펩타이들을 조절된다고 보고하였다. 실제로 somatostatin은 VIP의 억제조절인자로서 작용한다(Breder 등, 1992). 본 실험에서는 somatostatin의 발현양상은 관찰하지 않았지만 노화흰쥐의 시상하부에서 VIP-면역반응 신경세포의 수가 다수 감수됨을 관찰할 수 있었다. 본 실험의 결과나 알츠하이머 환자에서의 VIP 발현이 감소되는 것은 단순히 VIP 신경세포가 노화의 직접적인 영향으로 사라지는 것이 아니라 somatostatin과 같은 다른 신경펩타이들의 변화에 의해 억제되어 나타나는 결과일수도 있다.

본 실험은 흰쥐를 가지고 실험을 하였다. 흰쥐와 사람의 뇌는 노화에 대한 반응이 많이 다르다. 예를 들면, 노인의 뇌에 대한 많은 연구에서 신경세포의 수가 나이에 따라 감소된다는 것을 많이 보고가 되었지만 설치류의 경우에는 내뇌겉질에서는 세포손실이 없다고 보고되는 경우가 많다(Cha 등, 1997). 따라서 본 실험에서 관찰한 노화흰쥐의 시상하부에서 VIP 발현의 감소는 노화로 인해 변하는 하루주기리듬 기능에 영향을 미칠것으로 여긴다. 하루주기리듬은 주로 시상하부에서 조절하며, 시상하부의 신경세포들은 신경펩타이드를 연접틈새가 아닌 순환계통 안으로 분비함으로써 조절된다고 하며 이 신경펩타이드들이 신경조절물질이나 신경전달물질로 작용하여 자율신경계통과 관련된 기능을 조절하고(Sawcenko 등, 1984) 자율신경계 및 내분비계통과 관련이

있어 호르몬생성을 조절할 뿐만 아니라 체온, 식욕, 하루주기행동(circadian behavior), 수면, 성에 관련된 다양한 기능을 조절하는 아주 중요하다.

그리고 Mirochink 등(2005)은 serotonin의 결핍은 VIP와 VP의 세포체 크기는 변화시키지 않지만 세포수와 세포질내의 펩타이드를 감소시킨다고 하였다. Pedro 등(2005)는 노화흰쥐에 NGF(nerve growth factor)와 같은 성장호르몬을 투여하여 VIP와 VP의 발현증가를 유도하였다. 이와 같은 연구는 NGF와 같은 기능을 가지고 있는 BDNF(brain-derived neurotrophic factor)와 NT-3(neurotrophic factor-3)을 이용하여 신경펩티드의 합성을 조절할 수 있는지 더 많은 연구를 해야 할 것이다. 그리고 이러한 신경펩티드계의 선택적인 변화를 유도할 수 있다면 알츠하이머와 같은 신경퇴행성 질병의 연구에도 도움이 될 것이다.

이상의 결과를 종합해보면, 노화흰쥐 시상하부에서 VP-면역반응 신경세포의 수가 감소하였고 특히, VP-면역반응 신경세포는 뚜렷한 신경세포체의 부피의 증가를 나타냈으며 그 세포들의 팽대된 핵도 동시에 관찰되었다. 시상하부에서 VIP-면역반응 신경세포는 주로 활꼴핵에서만 나타났지만 노화흰쥐에서의 VIP-면역반응 신경세포이 세포감소율이 VP-면역반응 신경세포보다 높게 나타났다. 따라서 본 연구에서 관찰한 VP와 VIP 발현감소는 노화에 의해 다양한 기본생활주기가 파괴되고 하루주기행동의 주간리듬(diurnal rhythm)이 변화되는 원인중의 하나라고 생각한다. 그리고 VP와 VIP-면역반응 신경세포의 분포 위치와 세포의 형태 변화 등을 비교 관찰하는 것은 포유동물 뇌의 노화현상에 대한 VP와 VIP의 기능을 이해하는데 기초자료로서 제공될 것이다.

결 론

노화는 중추신경계의 구조를 변화시킬 뿐 아니라 여러 신경인자들의 분포 변화를 초래함으로써 생체리듬에 많은 변화를 가지게 한다. VP은 시상하부에서 분비되는 펩타이드의 일종으로서, 주로 혈압을 상승시키고 항이뇨 호르몬 작용을 가지며 VIP는 28개의 아미노산으로 구성되어 있으며 여러 동물의 위장관, 내분비샘, 뇌 및 척수 등에 광범위하게 분포하고 당분해, 혈관확장, 분비조절, 수면유도 및 통증조절 등 매우 다양한 신경생물학적인 기능을 가지고 있다. 따라서 본 연구는 여러 생체리듬에 관여하는 시상하부에 분포하는 VP과 VIP-면역반응 신경세포의 형태학적 변화를 노화 흰쥐에서 관찰함으로써 노화로 인한 신경세포 변화를 규명하고자 하였다.

Sprague-Dawley rat을 약 3개월의 젊은흰쥐와 약 18개월의 노화흰쥐를 각각 4마리와 8마리를 통상의 조직처리를 한 후 VP와 VIP 일차항체를 사용하여 면역조직화학염색을 한 후 광학현미경으로 비교관찰하였다..

VP의 염색결과는 주로 시상하부의 뇌실곁핵과 시각위핵에서 두드러지게 나타났으며 특히 노화흰쥐에서 그 숫자는 감소하였다. 그러나 세포체의 크기는 대조군에 비해 좀 더 비대하게 관찰되었고 팽대된 핵도 동시에 관찰되었다. 시상하부에서 VIP의 결과는 노화흰쥐에서 관찰되었던 VP-면역반응 신경세포와는 다르게 VIP-면역반응 신경세포의 세포체나 핵의 크기는 증가하지 않았으며, 그 숫자는 노화흰쥐에서 젊은흰쥐보다 훨씬 적은 수의 염색된 세포들을 관찰되었다.

따라서 본 연구에서 관찰한 VP와 VIP 발현감소는 노화에 의해 다양한 기본생활주기가 파괴되고 하루주기행동의 주간리듬(diurnal rhythm)이 변화되는 원인중의 하나라고 생각한다. 그리고 VP와 VIP-면역반응 신경세포의 분

포 위치와 세포의 형태 변화 등을 비교관찰하는 것은 포유동물 뇌의 노화현상에 대한 VP와 VIP의 기능을 이해하는데 기초자료로서 제공될 것이다.

참 고 문 헌

Aguilera G, “Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stess.” Front. Neuroendocrinol. 15: 321-350, 1994.

Antoni FA, “Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age.” Front. Neuroendocrinol. 14: 76-122, 1993.

Barbara AMB, Menno PG, Eddy AVZ, " Increase in somatostatin immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus of aged wistar rats." Brain research 958: 463-467, 2002.

Breder CD, Yamada Y, Yasuda K, Seino S, Saper CB, Bell GI, "Differential expression of somatostatin receptor subtypes in brain." J. Neurosci. 12:3920-3934, 1992.

Cha CI, Lee YI, Lee EY, Park KH, Baik SH, "Age-related changes of VIP, NPY, and somatostatin-immunoreactive neurons in the cerebral cortex of aged rats." Brain research 753:235-244, 1997.

Chohen IR, Albers H, "Disruption of human circadian and cognitive regulation following a discrete hypothalmic lesion: A casestudy." Neurology 41:726-729, 1991.

Hatton GI, “Emerging concepts of structure-function dynamics in adult brain: the hypothalamo-hypophysial system.” Prog. Neurobiology 34: 437-503, 1990.

Hurd MW, Ralph MR, "The signigicance of circadian organization for longevity in the golden hamster." J. Biol. Rhythms 13:430-436, 1998.

Kovacs GL, de Wied D, “Peptidergic modulation of learning and memory processes.” Pharmacol. Rev. 46: 269-291, 1994.

Landgraf R, “Intracerebrally vasopressin and oxytocin: Measurement, mechanisms and behavioural consequences.” J. Neuroendocrinol. 7: 243-253, 1995.

Leak RK, Card JP, Moore RY, "Suprachiasmatic pacemaker organization analyzed by viral transynaptic transport." Brain Res. 819:23 - 32, 1999.

Li H, Satinoff E, "Changes in cricadian rhythms of body temperature and sleep in old rats." Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 269:208-214, 1995.

Madeira MD, Sousa N, Lieberman AR, Paula-Barbosa MM, “Effects of chronic alcohol consumption and of dehydration on the supraoptic nucleus of adult male and female rats.” Neuroscience 56: 657-672, 1993.

Mirochnik V, Bosler O, Tillet Y, Calas A, Ugrumov M, "Long-lasting effects of serotonin deficiency on differentiating peptidergic neurons in the rat suprachiasmatic nucleus." Int. J. Neuroscience 23:85-91, 2005.

Morin LP, "The circadian visual system" Brain Res. Rev. 67:102 - 127 1994.

Mozurek MF, Beal MF, Malloy JR, Martin JB, "Vasoactive intestinal peptide immunoreactivity in Alzheimer cerebral corte." Ann. Neurol. 20:126, 1986.

Ouyang Y, Andersson CR, Kondo T, Golden SS, Johnson CH, "Resonating circadian clocks enhance fitness in cyanobacteria." Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:8660-8664, 1998.

Pedro AP, Armando C, Manuel MP, "Nerve growth factor restores the expression of vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide in the suprachiasmatic nucleus of aged rats." Brain research 1048:123-130, 2005.

Ruela C, Sousa N, Madeira MD, Paula-Barbosa MM, “Stereological study of the structural changes induced by chronic alcohol consumption and dehydration in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus.” J. Neurocytol. 23: 410-412, 1994.

Said SI and Mutt V, " Vasoactive intestinal polypoeptide and related

peptides," Ann NY Acad. Sci., 527, 1988.

Sanders DJ, Zahedi-Asi S, Marr AP, "Glucagon and CCK in the human brain : controls and patients with senile dementia of Alzheimer type." Brain research 55:465-471, 1982

Sawchenko PE, Swanson LW, Vale WW, "Co-expression of corticotropin releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat." Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:1883-1887, 1984.

Scarbrough K, Losee-Olson S, Wallen EP, Turek FW, "Aging and photoperiod effects on entrainment and quantitative aspects of locomotor behavior in Syrian hamsters." Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 272:1219-1225, 1997.

Turck FW, Penev P, Zhang Y, van Reeth O, Zee P, "Effects of age on the circadian system." Neurosci. Biohehav. Rev. 19:53-58, 1995.

Winocur G, Hasher L, "Aging and time-of -day effects on cognition in rats." Behav. Neurosci. 113:991-997, 1999.

Young LJ, Wang Z, Insel TR, "Neuroendocrine basis of monogamy." Trends Neurosci. 21: 71-75, 1998.

Zhang B, Glasgow E, Murase T, Verbalis JG, Gainer H, “Chronic hyposmolality induces a selective decrease in magnocellular neurons soma and nuclear size in the rat hypothalamic supraoptic nucleus.” J. Neuroendocrinology 13: 29-38, 2001.

Explanation of Figures

Figure 1. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus. Young group(A, C); Aged group(B, D). LM; paraventricular lateral magnocell, PM; paraventricular medialparvocell. The total number of vasopressin-immunoreactive neurons in the LM of the aged group is smaller than in the young group. The size of neuronal cell body and nuclei in aged group is larger than in young group. The density of immunoreactivity neurons in aged group is stronger than in young group. Scale bars=50㎛.

Figure 2. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in supraoptic nucleus of hypothalamus. Young group(A, C); Aged group(B, D). SON; supraoptic nucleus, OX; optic chiasm. The size of neuronal cell bodies and nuclei in Aged group is larger than in control group(arrow). Scale bars=50㎛(A, B), Scale bars=25㎛(C, D).

Figure 3. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in arcuate nucleus and median eminence of hypothalamus. Young group(A, C, E); Aged group(B, D, F). Arc; arcuate nucleus ME; median eminence. The vasopressin-immunoreactive neurons in Arc of aged group was not found. And The fiber density of immunoreactivity neurons of ME in aged group is stronger than in young group. Scale

bars=50㎛.

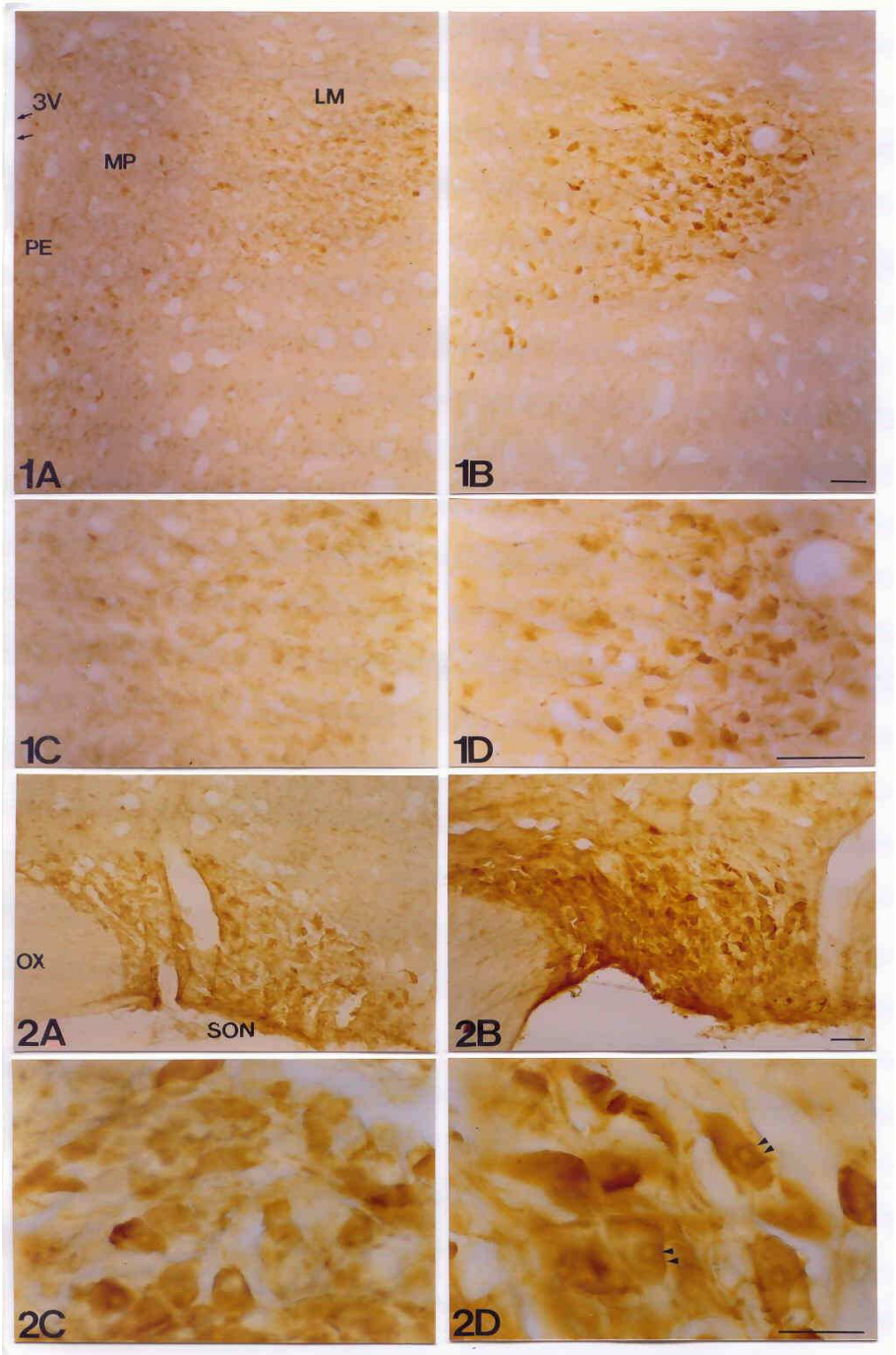
Figure 4. Photomicrographs of vasopressin-immunoreactive neurons in suprachiamatic nucleus of hypothalamus. Young group(A, C); Aged group(B, D). SCN; suprachiamatic nucleus, OX; optic chiasm. The total number of vasopressin-immunoreactive neurons in the SCN of the aged group is larger than in the young group. The density of immunoreactivity neurons in aged group is stronger than in young group. Scale bars=50㎛.

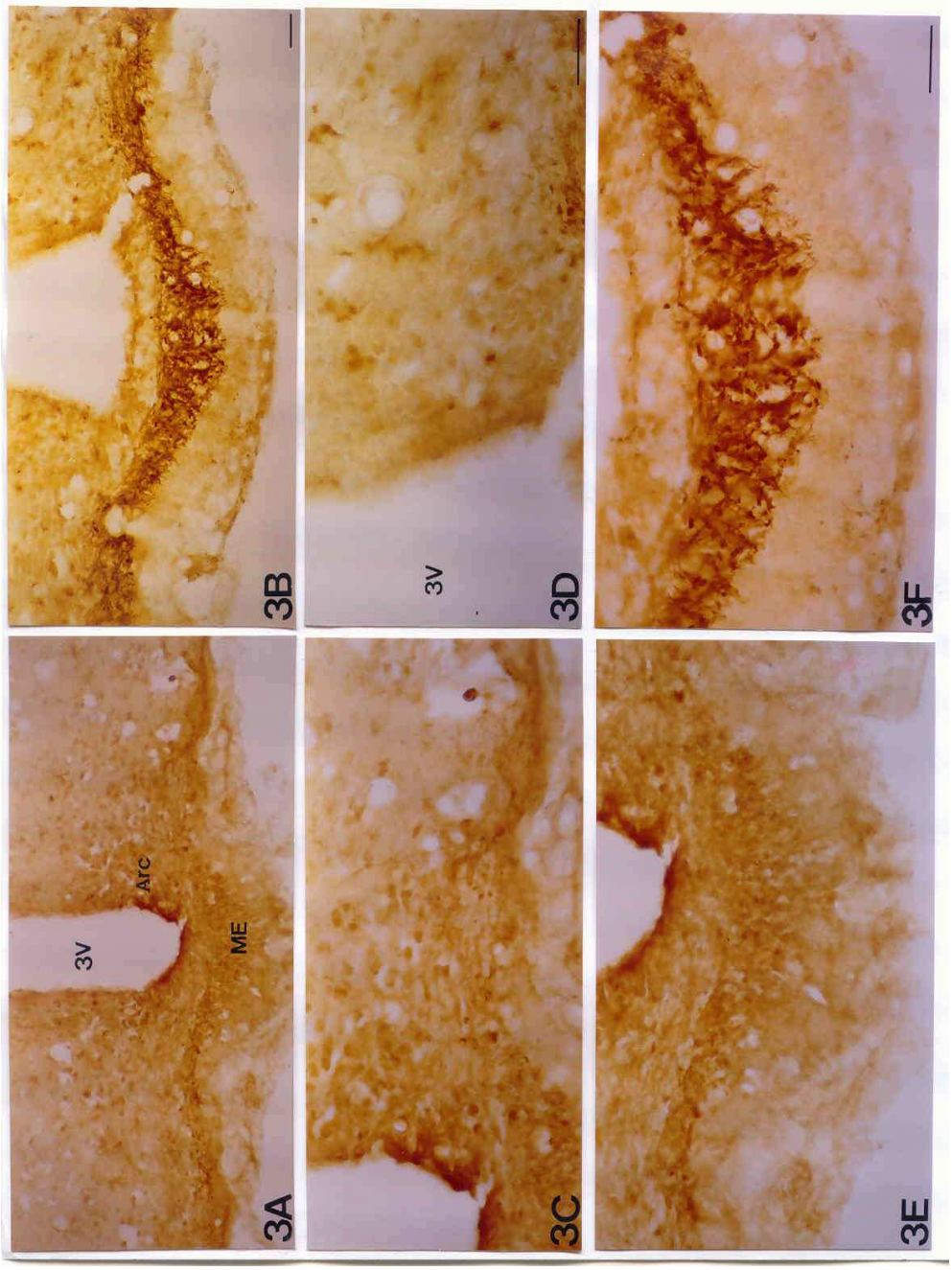
Figure 5. Photomicrographs of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in ventromedial hypothalamic nucleus, arcuate nucleus and median eminence of hypothalamus. Young group(A); Aged group(B). VMH; ventromedial hypothalamic nucleus, Arc; arcuate nucleus ME; median eminence. The VIP-immunoreactive neurons in Arc of aged group is smaller than in the young group. Scale bars=50㎛.

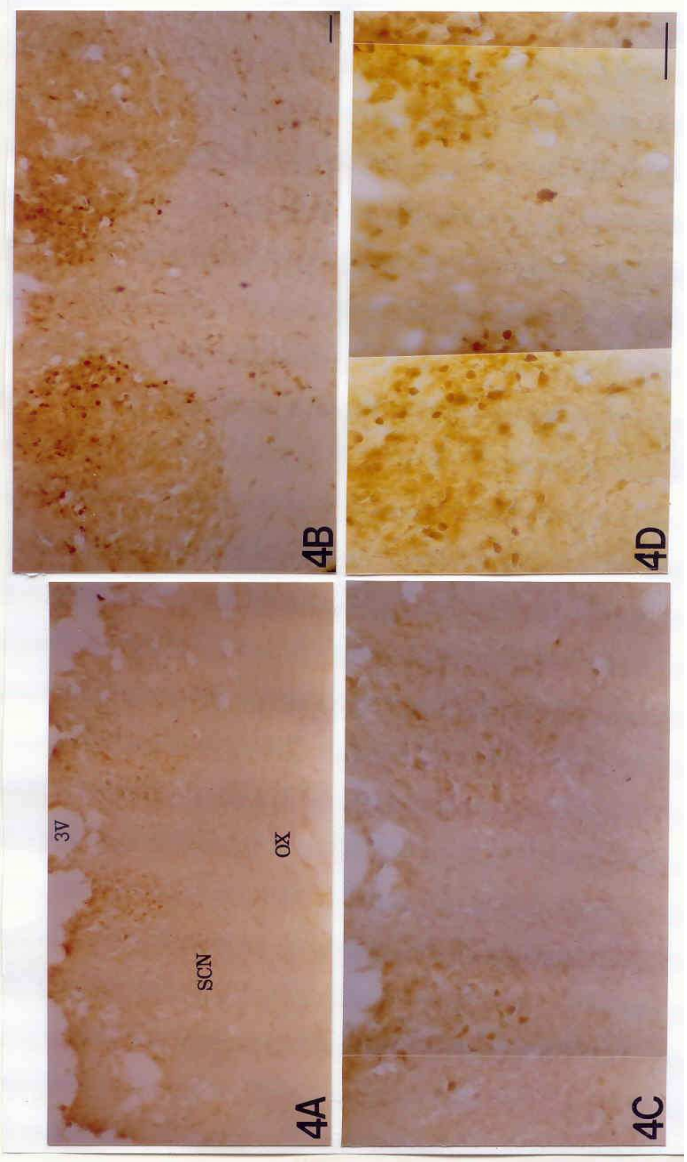
Figure 6(A). Graphic representation of the total number of Vasopressin-immunoreactive neurons estimated from the Paraventricular(PaLM) and Suparoptic nuclei(SON) of the young and aged rat. Columns represent means. The total number of vasopressin-immunoreactiveneurons in the PaLM is smaller in the

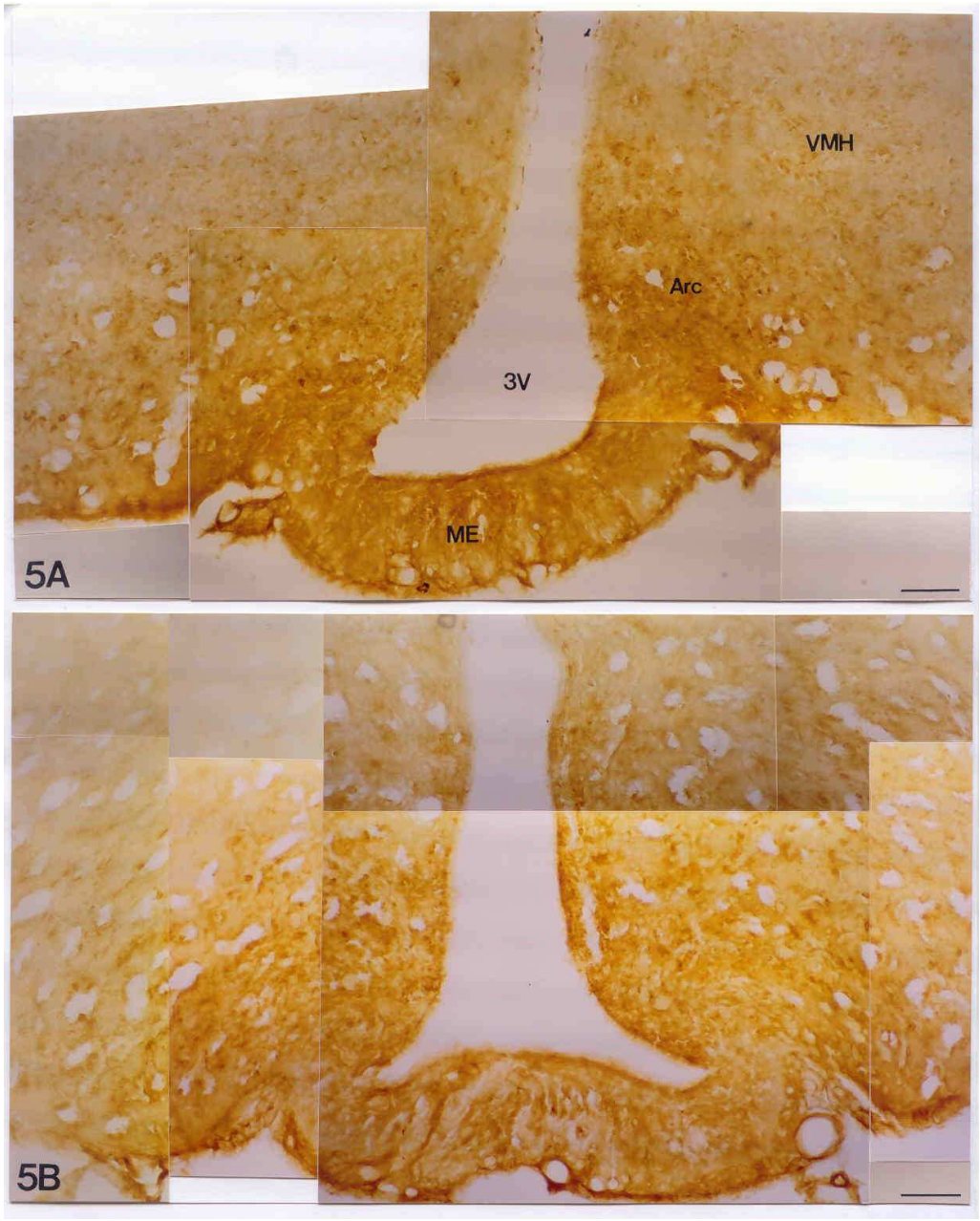
Aged rat than in the young rat. T-test : $^{*}P \angle 0.05$, $^{**}P \leq 0.01$ compared with control rats.

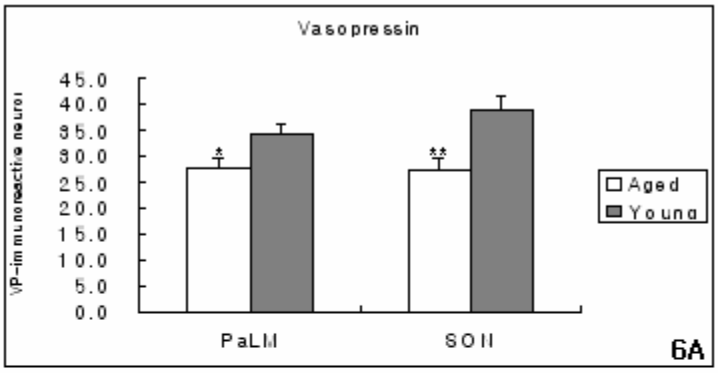
Figure 6(B). Graphic representation of the total number of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons estimated from the arcuate nuclei of the young and aged rat. Columns represent means. The total number of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons is significantly smaller in the Aged rat than in the young rat. T-test : $^{*}P \angle 0.05$ compared with control rats.

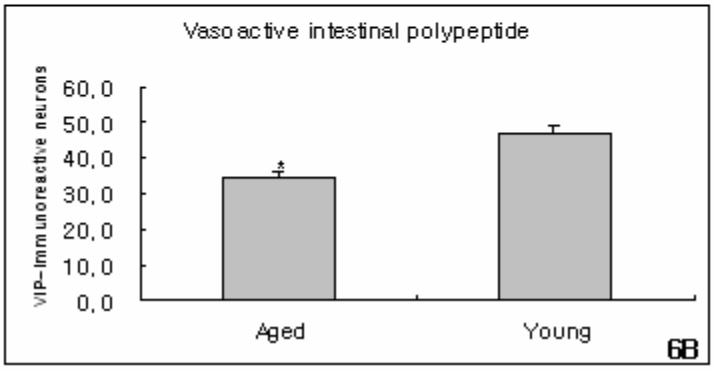

3V
LM
MP
PE
1A
1B
1C
1D
OX
SON
2A
2B
2C
2D


3A
3V
Arc
ME
3B
3C
3D
3V
3E
3F


3V
SCN
OX
4A
4B
4C
4D


VMH
Arc
3V
ME
5A
5B


Vasopressin
VP-immunoreactive neuro
45.0
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
*
**
Aged
Young
PaLM
SON
6A


Vasoactive intestinal polypeptide
VIP-immunoreactive neurons
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
*
Aged
Young
6B

저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번	20057440	과 정	박사
성 명	한글: 김 주수 한문 : 金 柱秀 영문 : Kim, Ju-Soo				
주 소	경기 안양시 동안구 비산 1동 삼성레미안 아파트 126-1006				
연락처	031-212-2537		E-MAIL	jusu-kim@yahoo.co.kr	
논문제목	한글 : **노화흰쥐의 시상하부에서 *vasopressin*과 *vasoactive intestinal polypeptide* 면역반응 신경세포의 형태학적 변화** 영문 : ***Morphological changes in vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the aged rats***				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(O) 반대( )

2007 년 2 월

저작자: 김 주 수 (인)

조선대학교 총장 귀하